

Tonicité des Sécrétions Lacrymales et des Humeurs Intra-Oculaires chez les Mammifères domestiques

**Quelques Collyres Aqueux
Isotoniques aux Larmes**

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 16 FÉVRIER 1954

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

par

FINIEL André

Né le 3 Août 1928 à MARSEILLE (Bouches-du-Rhône)



IMPRIMERIE DES BEAUX-ARTS
CAMILLE ANNEQUIN, 19, RUE ROUX-SOIGNAT, LYON

FINIEL (André)

Tonicité des sécrétions lacrymales et des humeurs intra-oculaires chez les Mammifères domestiques. Quelques collyres aqueux isotoniques aux larmes.

Lyon, Imprimerie des Beaux-Arts, C. Annequin, 1954. In-8, 48 p., fig.

(*Thèse Vétérinaire, Lyon, 1953-54, N° 19*).

FINIEL (André)

Tonicité des sécrétions lacrymales et des humeurs intra-oculaires chez les Mammifères domestiques. Quelques collyres aqueux isotoniques aux larmes.

Lyon, Imprimerie des Beaux-Arts, C. Annequin, 1954. In-8, 48 p., fig.

(*Thèse Vétérinaire, Lyon, 1953-54, N° 19*).

FINIEL (André)

Tonicité des sécrétions lacrymales et des humeurs intra-oculaires chez les Mammifères domestiques. Quelques collyres aqueux isotoniques aux larmes.

Lyon, Imprimerie des Beaux-Arts, C. Annequin, 1954. In-8, 48 p., fig.

(*Thèse Vétérinaire, Lyon, 1953-54, N° 19*).

FINIEL (André)

Tonicité des sécrétions lacrymales et des humeurs intra-oculaires chez les Mammifères domestiques. Quelques collyres aqueux isotoniques aux larmes.

Lyon, Imprimerie des Beaux-Arts, C. Annequin, 1954. In-8, 48 p., fig.

(*Thèse Vétérinaire, Lyon, 1953-54, N° 19*).

• TONICITÉ DES SÉCRÉTIONS LACRYMALES
ET DES HUMEURS INTRA-OCULAIRES
CHEZ LES MAMMIFÈRES DOMESTIQUES

QUELQUES COLLYRES AQUEUX ISOTONIQUES
AUX LARMES

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur M. JUNG.
Professeurs honoraires.. MM. BASSET.
DOUVILLE.
CUNY.

PROFESSEURS

Physique, Chimie et Toxicologie, Pharmacie.....	MM. TAPERNOUX.
Anatomie descriptive des animaux domestiques, Tératologie	TAGAND.
Physiologie, Thérapeutique générale, Matière médicale	JUNG.
Histologie et Embryologie, Anatomie pathologique, Inspection des viandes.....	LUCAM.
Parasitologie et maladies parasitaires, Zoologie appliquée, Botanique, Clinique des maladies parasitaires et des maladies de la peau.....	EUZEBY.
Pathologie médicale, Séméiologie et Propédeutique, Jurisprudence vétérinaire, Médecine légale, Clinique médicale.....	BRION.
Pathologie chirurgicale, Séméiologie, Médecine opératoire et ferrure, Clinique chirurgicale.....	COLLET.
Pathologie de la reproduction.....	BERTRAND.
Maladies microbiennes, Police sanitaire, Microbiologie et Pathologie générale, Clinique spéciale.....	GORET.
Zootecnie et appréciation des animaux domestiques, Aliments du bétail, Agronomie et Hygiène des animaux, Economie rurale	JEAN-BLAIN

CHEFS DE TRAVAUX

MM. BARONE, Agrégé, FERRANDO, Agrégé, JOUBERT, Agrégé,
MAGAT, BOST, COULON, FERNEY, FLACHAT

ASSISTANTS

MM. COTTEREAU, VALENTIN

MEMBRES DU JURY

MM. REVOL, Président ; BRION, COLLET, Assesseurs.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

Tonicité des Sécrétions Lacrymales et des Humeurs Intra-Oculaires chez les Mammifères domestiques

**Quelques Collyres Aqueux
Isotoniques aux Larmes**

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 16 FÉVRIER 1954

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

par

FINIEL André

Né le 3 Août 1928 à MARSEILLE (Bouches-du-Rhône)



IMPRIMERIE DES BEAUX-ARTS
CAMILLE ANNEQUIN, 19, RUE ROUX-SOIGNAT, LYON

—
1954



A MES PARENTS

En tête de cet ouvrage
qu'il nous soit permis d'exprimer notre respectueuse
et profonde gratitude

A Monsieur le Professeur REVOL

Qui a bien voulu mettre à notre disposition ses
laboratoires de la Faculté de Pharmacie, orien-
ter nos recherches, et nous faire le grand honneur
de présider le Jury de cette thèse.

A Monsieur le Professeur BRION

Qui nous a aidé de ses très précieux conseils.

A Monsieur le Professeur COLLET

Qui nous a manifesté le plus bienveillant inté-
rêt et nous a souvent guidé dans nos travaux.

A Monsieur l'Assistant NOUVEL

Qui a obligeamment suivi nos recherches et
nous a si fréquemment accordé le secours de sa
science et de sa grande expérience.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

A la suite de travaux concordants effectués à une époque assez lointaine, il était unanimement admis que les sécrétions lacrymales humaines étaient hypertoniques par rapport au sang; en accord avec ces anciennes données, le Codex de 1937 recommandait d'isotoniser les collyres aux larmes en leur conférant la même pression osmotique que celle d'une solution titrant 14 grammes pour mille de chlorure de sodium.

Ces notions parurent cependant erronées à un certain nombre de chercheurs, et des travaux danois récents (Krogh, Lund, Pedersen-Bjergaard, 1945) devaient établir l'isotonie des larmes humaines au sang. Cette donnée nouvelle était vérifiée par la suite (Jau-mard, 1951).

En est-il de même chez les animaux domestiques ? Nous nous sommes proposé de le rechercher et nous avons tenté de comparer, en utilisant le même procédé de mesure, la tension osmotique des humeurs intra-oculaires à celles des larmes animales.

La tonicité des liquides lacrymaux et endoculaires étant déterminée sur des animaux sains, peut-on noter des variations de leur pression osmotique dans les cas pathologiques et expérimentaux, ou bien ces liquides biologiques présentent-ils la même relative constance que le sang ? C'est ce que nous avons essayé de rechercher dans quelques cas particuliers.

Nous nous sommes d'autre part proposé de rechercher la composition susceptible d'être adoptée pour quelques solutions aqueuses de collyres, utilisés en médecine vétérinaire, pour leur conférer

une tonicité et un pH identique à ceux des liquides baignant extérieurement l'œil.

Ces recherches eussent été ingrates et difficiles, si nous n'avions trouvé tant auprès de M. le Professeur Revol que de M. l'Assistant Nouvel et de ses collaborateurs, dont les laboratoires nous furent largement ouverts, une aide et un secours dont nous ne saurions trop souligner l'importance ni trop dire combien nous leur en sommes reconnaissant.

CHAPITRE PREMIER

LES PROCÉDÉS DE MESURE DE LA PRESSION OSMOTIQUE

La notion « d'osmosé » prit le jour avec Dutrochet, qui observa que lorsqu'une membrane animale sert de séparation entre l'eau et une solution aqueuse, il y a diffusion à travers cette membrane des deux liquides l'un dans l'autre, mais généralement avec prédominance dans un sens.

Pfeffer établit des membranes semi-perméables capables de se laisser traverser par l'eau pure mais imperméables aux substances dissoutes dans ce liquide, membranes qui furent à la base des expériences de Van't Hoff : celui-ci assimile les solutions de cristalloïdes à des corps gazeux, établit l'existence d'une « pression osmotique », et ses travaux complétés par Arrhénius et Raoult permirent de déterminer cette pression.

La transposition de ces phénomènes d'ordre physique à la cellule végétale fut effectuée par de Vriès qui étudia les modifications du contour protoplasmique à l'intérieur de l'enveloppe cellulosique sous l'action de solutions salines diversement concentrées et introduisit la notion « d'isotonicité », notion applicable à la cellule animale comme l'ont montré Malassez et Potain, Hamburger (9), Charles Richet dans des études sur les altérations des hématies en contact avec des solutions hypertoniques et hypotoniques.

La pression osmotique n'est pas l'apanage des cristalloïdes seuls ; les colloïdes jouent un rôle dans la tonicité des solutions ;

selon Duclaux (6), la micelle se comporte comme un assemblage d'un gros ion complexe et d'un certain nombre d'ions ordinaires.

Si un rôle primordial fut dévolu aux humeurs de l'organisme par les vieux maîtres à l'époque des « humeurs peccantes », il semble que par la suite, avec l'arrivée du microscope, l'intérêt des chercheurs se soit détourné des milieux liquides dont on sous-estima l'importance. Mais selon Winter (33), « les plasmas liquides ne sont pas seulement des véhicules, des tissus liquides comme on se plaît à le dire ; ils représentent avant tout la contre-partie animée de la matière solide passive ». Les phénomènes d'osmose ont leur place dans cette contre-partie animée au milieu des phénomènes physico-chimiques complexes qui accompagnent la vie des tissus.

On a cherché depuis une époque assez lointaine à déterminer la pression osmotique des différentes humeurs et sécrétions de l'organisme. C'est ainsi que l'on a constaté la constance osmotique du sérum sanguin, l'isotonicité au sérum de certaines humeurs et sécrétions telles que la bile, le lait, le liquide amniotique, les sérosités péurales ; par contre, seraient hypertoniques le liquide céphalo-rachidien, la salive, l'urine surtout, et, enfin en ce qui nous intéresse, les larmes, du moins l'admettait-on sans réserves il y a encore peu de temps.

Nous nous proposons de passer brièvement en revue les différents procédés qui peuvent être employés pour déterminer la pression osmotique d'un liquide biologique, en l'occurrence les humeurs internes de l'œil et les sécrétions lacrymales.

I. — LA MESURE DIRECTE A L'OSMOMÈTRE

Ce fut Pfeiffer qui mit la méthode au point en employant une membrane au ferrocyanure. Ce procédé fut utilisé par Duke-Elder (7) dans la mesure de la pression osmotique du liquide intra-oculaire.

Cette méthode, d'un emploi assez délicat, donne directement la pression osmotique du liquide utilisé, alors qu'il faut, dans les procédés par cryoscopie, déterminer la pression osmotique à l'aide de formules thermodynamiques en partant du point de congélation.

Mais ceci n'est pas un avantage dans la plupart des cas biologiques où il est plus intéressant de procéder par comparaison avec le sang ou avec une solution de chlorure de sodium de titre donné.

II. — LA CRYOSCOPIE

Simple et précise en ce qui concerne la mesure de la pression osmotique des « corps simples et des composés définis parfaitement purs », la méthode cryométrique ne donne pas des résultats entièrement satisfaisants lorsque la mesure doit être effectuée sur des solutions complexes telles que les liquides biologiques. En effet, selon Raoult (25) « pour des corps impurs liquides, c'est-à-dire pour les dissolutions, les lois de la solidification sont différentes. Dans de tels mélanges, la partie qui se solidifie la première est constituée par le dissolvant pur ; il en résulte que la partie qui reste liquide devient plus concentrée et par conséquent son point de congélation s'abaisse à mesure que la solidification fait des progrès ». Jaumard (12) constate, en outre, que l'imprécision de la méthode augmente avec la vitesse de refroidissement et l'importance de la surfusion.

Les imperfections de la cryoscopie sont mises en évidence par les divergences des résultats obtenus par les auteurs : la pharmacopée anglaise adopte pour le sang un abaissement du point de congélation de $0^{\circ}52$; le chiffre communément admis est de $-0^{\circ}56$ et Jaumard le fixe avec précision à $-0^{\circ}54$. Si ces variations ont un intérêt pratique assez réduit, la méthode couramment utilisée présente par contre l'inconvénient majeur d'exiger un volume de liquide incompatible avec les volumes disponibles d'humeur aqueuse ou de larmes.

III. — LES MÉTHODES DE MODIFICATIONS CELLULAIRES

Elles tiennent compte du fait que chaque tissu exige d'être baigné par une solution de concentration donnée avec une certaine limite de tolérance : les globules rouges supportent mal les variations de concentration et le mécanisme régulateur de la com-

position sanguine intervient aussitôt pour rétablir l'équilibre osmotique. L'endothélium des séreuses, la cellule rénale sont moins fragiles ; la cellule intestinale est très résistante.

Applicable cette fois-ci dans l'examen de quantités de liquides faibles, le procédé fut largement utilisé par Hamburger (9) : « la « méthode repose sur le principe que le volume des hématies « dépend de la pression osmotique de la solution ambiante et « que deux solutions salines qui communiquent aux corpuscules « d'une même quantité de sang le même volume sont isotoni- « ques ». Inapplicables pour des substances telles que la bile, qui détruit les globules rouges ou telles que l'urée, qui pénètre dans les globules, les tests d'hémolyse et de diamètre des hématies permirent de déterminer la pression osmotique des larmes, de l'humeur aqueuse, du sang, du liquide céphalo-rachidien, de la lymphe.

La méthode a eu des détracteurs : Aulagnier (1) la trouve peu sensible car le globule rouge a une résistance qui permet de supporter une hypertonie modérée ; pour Römer (28) il ne faut pas négliger les différences de fragilité des globules rouges. D'autre part, les globules rouges seraient légèrement hypertoniques au sérum. D'après Girard (8), le diamètre des hématies dépendrait de leur charge et de la polarisation du septum en rapport avec la réaction acide ou alcaline de l'hématie.

En ce qui concerne la pression osmotique du liquide lacrymal, Cantonnet (4) utilise non plus des hématies mais l'épithélium cornéo-conjonctival dont la sensibilité aux variations de concentration paraît faible si l'on tient compte du fait que l'œil supporte assez bien les divers liquides de lavage oculaire et si l'on considère qu'il est exposé à des variations de concentration des larmes par dessiccation brusque (d'effet cependant moindre qu'on pourrait le penser a priori, selon Cantonnet).

Devant l'imprécision des résultats obtenus au moyen de ces diverses méthodes dans la mesure de la pression osmotique des larmes, des procédés précis, plus récents ont été utilisés.

IV. — MÉTHODE THERMO-ÉLECTRIQUE ET MESURE DES TENSIONS DE VAPEUR (procédé danois)

Préconisée par Hill, modifiée et utilisée par Krogh, Lund et Pedersen-Bjergaard (14), la méthode est basée sur le fait que deux solutions de concentrations différentes n'ont pas la même vitesse d'évaporation, et sont à des températures inégales. Mettant en contact avec les deux solutions deux couples thermo-électriques, les auteurs danois décèlent la différence des températures par l'apparition d'un courant électrique qu'enregistre un galvanomètre très sensible. Lorsque la solution à tonicité inconnue est comparée avec une solution étalon isotonique, le galvanomètre n'indique aucun passage de courant (1).

V. — TECHNIQUE UTILISANT LA FUSION COMPARATIVE (Jaumard [12])

a) Principe.

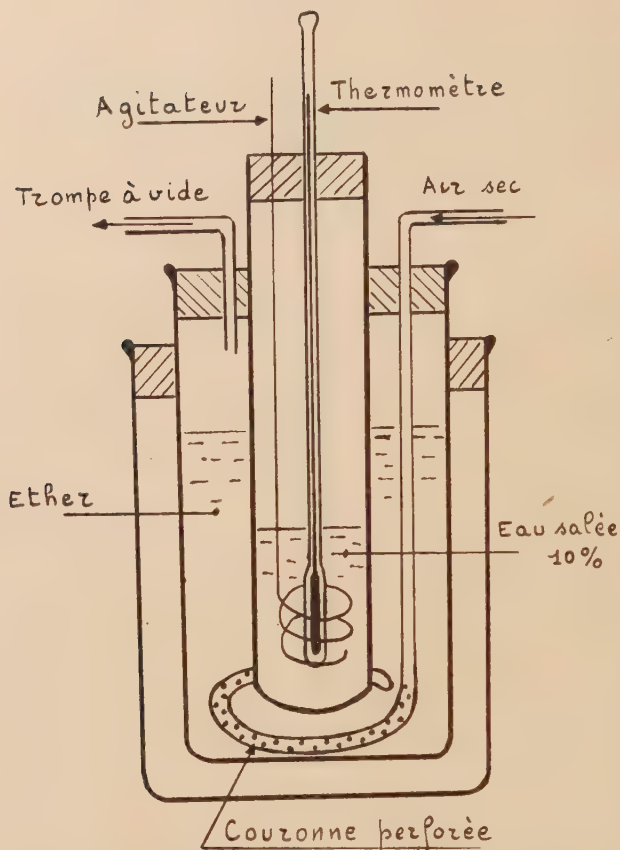
Deux solutions congelées fondent à la même température si elles ont la même concentration, sinon la plus concentrée fondra à une température plus basse que l'autre.

Le procédé consiste « à comparer la fusion en tube capillaire » du liquide lacrymal et de solutions chlorurées à différents titres « après congélation préalable par la neige carbonique ». On utilise un cryoscope à éther anhydre calorifugé et modifié, permettant de voir la fusion s'opérer dans les tubes capillaires placés le long du réservoir du thermomètre.

b) Prélèvement des larmes.

Le liquide lacrymal est recueilli par capillarité à l'aide de tubes de verres de 10-12 centimètres de long, à paroi très fine, d'environ un millimètre de section et rodés à leurs extrémités comme l'indique Jaumard ; les tubes renfermant les solutions témoins devront avoir un diamètre autant que possible identique.

(1) On trouvera dans la thèse de Jaumard (12) le schéma de l'appareil et la technique utilisée par Krogh, Lund et Pedersen-Bjergaard.



Cryoscope à éther modifié pour la détermination de la tonicité du liquide lacrymal, selon Jaumard.

Lorsqu'une colonne de larmes de 1 cm. à 1 cm. 5 a été obtenue, nous la faisons remonter à quelque distance de l'extrémité du tube dont nous scellons à la flamme les deux bouts. Ceux-ci restent fermés jusqu'au moment de procéder à la congélation, car il est nécessaire de sectionner l'extrémité la plus éloignée du liquide afin d'éviter la rupture du verre.

c) Technique de mesure.

« Tout d'abord, l'appareil est mis en marche de façon à obtenir
 « un refroidissement rapide. Lorsqu'on atteint la température de
 « — 1°1, on règle le débit d'air pour que la température se sta-
 « bilise, puis remonte très lentement à raison de 0°01 par minute,
 « le réglage se faisant au moyen d'un robinet à pointeau très
 « sensible, intercalé entre la trompe à vide et l'appareil. La re-

« montée de la température étant ainsi réglée, les solutions con-
« tenues dans les deux tubes capillaires adaptés au réservoir du
« thermomètre sont congelées par la neige carbonique et rapide-
« ment plongées dans le tube central dont le contenu se réchauffe
« lentement... Lorsque la fusion s'amorce en un point il apparaît
« une partie transparente se distinguant du reste de la colonne
« opaque. Mais cette méthode ne nous permet pas de déterminer
« le point de fusion exact ; en effet, malgré une élévation exces-
« sivement lente de la température, la fusion s'étale sur au moins
« 15 centièmes de degré ; par suite, la lecture du thermomètre
« n'est d'aucune utilité. Nous opérons donc en comparant la mar-
« che de fusion de la solution à étudier avec celle d'une gamme
« étalon de solutions chlorurées sodiques... Nous considérons
« comme isotoniques le liquide lacrymal et la solution témoin si
« leurs étapes de fusion sont simultanées. »

Cette méthode permet à Jaumard l'obtention de résultats avec une erreur sur le titre n'excédant pas 0.25 gramme pour mille. Elle n'est applicable qu'à la mesure de tension osmotique de solutions limpides, sinon la disparition des cristaux de glace ne saurait être perceptible par l'œil de l'observateur.

Pour déterminer la pression osmotique des humeurs intra-oculaires et des sécrétions lacrymales des animaux domestiques, nous avons utilisé le même appareil. Comme le signale Jaumard, le réglage de la trompe à vide est délicat : en raison de l'inertie thermique de l'appareil et du thermomètre, une modification du débit d'air n'est suivie qu'avec un certain retard d'une variation dans le mouvement de la colonne mercurielle et il est difficile d'obtenir un réchauffement lent et régulier. Or, lorsque ce réchauffement trop rapide dépasse 0,02 degré par minute, les différences de concentration ne sont facilement apparentes que si elles sont égales ou supérieures à 1 pour mille. Considérant qu'une mesure est correcte lorsqu'elle nous permet d'apprécier d'une façon nette une différence de concentration de 0,5 o/oo en chlorure de sodium, nous avons effectué la plupart de nos mesures en fixant trois tubes sur le réservoir du thermomètre à l'aide d'un dispositif très simple.

L'un des tubes renferme le liquide dont il faut déterminer l'équivalent osmotique, les deux autres tubes sont des témoins dont les titres varient de 0,5 pour mille ; par exemple, nous estimerons que la pression osmotique d'un liquide donné est égale à celle d'une

solution titrant de 9 à 9,5 pour mille de chlorure de sodium lorsque nous constaterons que la fusion du liquide lacrymal s'opère peu après celle de la solution titrant 9,5 pour mille et peu avant celle du tube témoin titrant 9 pour mille de chlorure. Les trois tubes congelés, placés sur un même plan et en bonne lumière, ne se trouvant pas exactement à la même distance de la source froide, il est nécessaire de se servir de l'agitateur pour homogénéiser la température dans le tube central.

d) Recherches personnelles : incidence de divers facteurs.

Dans la plupart des cas, les liquides ont été soumis à l'expérience quelques heures après le prélèvement ; exceptionnellement ce délai a dû atteindre 24 heures ; mais dans ce cas, ils ont été conservés en glacière.

Nous estimons que, dans les conditions choisies pour faire les mesures, aucune modification susceptible de changer la pression osmotique n'est intervenue.

Mais en est-il encore de même lorsque les prélèvements sont abandonnés un temps suffisamment long à une température ambiante assez élevée, en l'occurrence celle d'une étuve à 38° ?

Pour éviter une augmentation de la pression osmotique due à l'évaporation, les tubes capillaires étaient presque entièrement remplis de larmes ou d'humeur oculaire de telle façon que le volume occupé par la partie liquide soit au moins environ 8 fois supérieur à celui occupé par l'air, ou mieux, nous avons confectionné à la place de tubes rectilignes des pipettes renflées en leur centre et aux bouts effilés.

Nous pouvions facilement nous assurer que les tubes étaient bien scellés en constatant, à la sortie de l'étuve, que le volume occupé par l'air n'avait pas varié.

Afin de mesurer la pression osmotique des liquides ainsi mis à l'étuve nous avons dû avoir recours à un transvasement dans des tubes capillaires normaux.

Pour les larmes, les prélèvements ont été faits chez la vache, dont les sécrétions oculaires ont été activées par irritation. Les humeurs aqueuses et vitrées ont été recueillies chez le chat et le chien morts depuis peu (nous avons précédemment trouvé pour les larmes et les humeurs intra-oculaires une pression osmotique égale à celle d'une solution titrant entre 9 et 9,5 pour mille de chlorure de sodium).

Afin d'éviter dans la mesure du possible une action de désintégration moléculaire d'origine microbienne, probablement de faible importance à cause du lysozyme, nous avons effectué les prélèvements dans des pipettes stériles, et, en ce qui concerne les milieux internes de l'œil, nous avons cautérisé la surface de celui-ci avant la ponction.

Après 24 heures d'étuve, nous avons obtenu les chiffres suivants :

	Equivalent osmotique en ClNa pour o/oo égal à
Humeur aqueuse de chat.....	11
Humeur aqueuse de chat.....	9,5
Humeur vitrée de chat.....	9,5-10

Au bout de 48 heures d'étuve :

Humeur aqueuse de chat.....	10,5-11
Humeur aqueuse de chien.....	10
Larmes de vache.....	10,5
Larmes de vache.....	10,5

Au bout de 4 jours d'étuve :

Larmes de vache.....	11,5
Humeur vitrée de chat.....	11

Nous avons cherché à savoir si nos prélèvements étaient stériles. A cet effet, nous avonsensemencé sur gélose quelques-uns d'entre eux après dosage :

Deuxensemencementsaérobiesetanaérobiesprati-
quésàpartir
de deux prélèvements d'humeur aqueuse de chat, après étuvage
et dosage, ne donnent lieu à aucun développement microbien.

Deuxensemencementsprati-
quésàpartir de deux prélèvements,
étuvés et dosés, de larmes de vache, donnent naissance l'un à une
souche de staphylocoques non pathogènes, l'autre à une souche
de *B. subtilis*.

Faisant la contre-expérience consistant à ensemencer l'un de
nos prélèvements stériles avec la souche de staphylocoques isolée,
nous avons cherché si la présence de germes entraînait après
séjour à l'étuve une plus forte augmentation de la pression osmo-
tique. Tout d'abord, nous avons constaté qu'un dépôt très faible

de la surface de la culture dans un prélèvement d'humeur dosé aussitôt après, ne donne pas d'augmentation de la pression osmotique, qui reste comprise entre 9 et 9,5.

Deux prélèvements d'humeur aqueuse de chatensemencés nous donnent dans les deux cas, après 48 heures d'étuve, une valeur de 10. La souche de staphylocoques ne saurait donc être considérée comme ayant augmenté la pression osmotique de la solution.

Il faut retenir de nos essais que, sous l'action de la chaleur modérée et du temps, *in vitro*, la pression osmotique des larmes et des humeurs intra-oculaires est augmentée d'une façon sensible. Nous supposons que ce phénomène est dû à l'action de diastases dont l'activité se traduit par une désintégration moléculaire. Il eût été sans doute intéressant de pouvoir détruire les diastases par la chaleur et de rechercher ensuite si, après séjour à l'étuve, une augmentation de la pression osmotique serait constatée; mais, outre la rupture des tubes servant de récipient, la chaleur entraînait la coagulation des albumines contenues dans les liquides recueillis : le prélèvement était trouble, rendant ainsi toute mesure impossible.

CHAPITRE II

TONICITÉ DES LIQUIDES INTRA-OCULAIRES

I. — LEUR COMPOSITION CHIMIQUE CHEZ L'HOMME ET CHEZ LES ANIMAUX

L'humeur aqueuse est un liquide absolument limpide, dont le caractère principal est sa richesse en chlorure de sodium et sa faible teneur en protéines.

Le corps vitré est considéré comme un tissu fibrillaire imbibé d'humeur aqueuse, ce qui, du point de vue physico-chimique, en fait un gel. La centrifugation le dédouble en deux parties : l'une, liquide, n'est que de l'humeur aqueuse selon Magitot (19) ; l'autre est un dépôt que l'analyse décèle comme étant constitué par des protéines.

Des mesures chimiques, déterminant la composition centésimale de ces liquides, chez l'Homme et chez les Animaux, ont été effectuées à plusieurs reprises; elles permettent de diviser les différents constituants en colloïdes et en substances diffusibles.

Parmi les colloïdes se trouvent des corps immunisants, des ferments (maltase, amylase... ferments protéolytiques). Les protéines totales sont en très faibles quantités : environ 0,02 pour cent dans l'humeur aqueuse et 0,06 pour cent dans le vitré, alors que le sérum en renferme 7,36 pour cent selon Magitot.

Parmi les substances diffusibles certaines, non ionisées, telles que le sucre, l'acide lactique, sont à un taux à peu près semblable à celui du sérum. En ce qui concerne les corps ionisés, les chlorures

ont attiré l'attention des chercheurs car leur teneur serait plus élevée dans les liquides endoculaires que dans le sang. Considérant que le faible poids moléculaire du chlorure de sodium et son ionisation forte lui confèrent une grande importance dans les valeurs osmotiques, nous avons relevé quelques chiffres fournis par différents auteurs et relatifs à son taux chez l'Homme.

	Taux de Chlorure de sodium	
	dans l'humeur vitrée o/oo	dans l'humeur aqueuse o/oo
Berzilier (1832) (2).....	14,2	11,5
Mestrezat et Magitot (1922) (19)....		7,1
Polonowski (24)	8,5-9,5	
Kunst (15),.....	9,9	9,5
Duke Elder (1927) (7).....	6,3	

Selon Duke Elder, le taux de chlorure de sodium serait de 5,5 o/oo dans le plasma artériel et de 5,7 o/oo dans le plasma veineux. Quant aux humeurs aqueuse et vitrée on leur attribue à partir de 1930 une valeur moyenne de 7 grammes de chlorure de sodium par litre chez l'Homme et chez les Animaux.

II. — PRESSION OSMOTIQUE DES LIQUIDES ENDOCULAIRES

a) Travaux antérieurs.

Les premières déterminations furent effectuées sur le bœuf et le lapin à l'aide de la cryoscopie par Dexter (1892) et Hunst (1895) (37) qui trouvèrent une hypertonie manifeste de l'humeur aqueuse par rapport au sérum. Ces mesures furent refaites et confirmées par Rochon-Duvigneaud et Onfray (27) (1904) qui placèrent, en outre, des yeux dans de l'eau distillée, dans du sérum physiologique ou dans de l'eau salée à 20 pour cent et notèrent une augmentation de poids de l'organe dans les deux premiers cas.

Par la méthode de plasmolyse, Hamburger (9) (1893), puis Manca (37) (1898) trouvèrent eux encore une hypertonie, mais Römer (28) (1907), reprenant leurs expériences et tenant compte

des erreurs qu'il impute au procédé de plasmolyse, affirme qu'il y a « plus ou moins isotonie ».

Cantonnet (3) (1908), mélangeant les vitrés de deux yeux humains pour obtenir une quantité suffisante à analyser, fixe à 9,9 pour mille le coefficient osmotique de l'humeur vitrée à l'aide de la cryoscopie, à 9,6 par la méthode de Hamburger et conclut que les liquides de l'œil, légèrement hypertoniques par rapport au sang, sont des annexes du système lymphatique.

Puis Van der Hoeve (1912), Osborne (1919) par la recherche du point de congélation, trouvent isotoniques au sang les milieux internes de l'œil. Par contre, Dieter (5) (1925) décèle une légère hypotonie de l'ordre de 12 millimètres de mercure.

Duke Elder (7) (1927) utilise la méthode directe de mesure par comparaison avec le plasma du sang du même animal : « Les deux « liquides sont équilibrés dans un micro-osmomètre, la pression « osmotique colloïdale étant mesurée avec un manomètre et les « quelques changements dans les constituants diffusibles étant « estimés par la chimie. Grâce à son excès de substances non dif-
« fusibles, le plasma exerce une pression osmotique supérieure
« de 20 à 30 millimètres de mercure à celle du liquide intra-ocu-
« laire. » Magitot (19) estime que la légère hypotonie de l'humeur aqueuse n'est qu'une apparence, car il faut tenir compte de l'eau fixée sur les molécules protéiques, et que la pression osmotique de l'humeur aqueuse se trouve en équilibre avec celle des capillaires.

Enfin, Ridley (29) (1930) par la cryoscopie, Yudkin et Gilman (36) par la méthode thermo-électrique de Hill, trouvent que le liquide intra-oculaire est isotonique au sang.

Nous avons appliqué, pour mesurer la pression osmotique d'humeurs oculaires animales, le procédé préconisé par Jau-mard (12) pour l'étude du liquide lacrymal.

b) Recherches personnelles.

1° Pression osmotique de l'humeur aqueuse et de l'humeur vitrée prélevées sur des yeux sains.

Les liquides proviennent d'animaux anesthésiés au chloral ou sacrifiés à la strychnine, le prélèvement, dans ce cas, ayant lieu immédiatement après la mort. Pour prélever l'humeur vitrée nous avons partiellement désorbité et luxé l'œil en dehors de façon à

pouvoir ponctionner la sclérotique. A l'aide d'un instrument très tranchant, nous avons pratiqué une incision entamant partiellement cette membrane et dans l'entaille ainsi faite nous avons introduit un tube capillaire que nous avons poussé en direction de la chambre postérieure. Dès que l'extrémité du tube pénètre dans la gelée du vitré, une ascension de liquide s'effectue par capillarité. La ponction de la chambre antérieure, effectuée de même, n'offre aucune difficulté.

En ce qui concerne l'humeur aqueuse, nous avons fait les mesures suivantes :

Chez la Vache	1 dosage sous anesthésie.
Chez le Chat	2 dosages après la mort.
Chez le Chien	2 dosages sous anesthésie.
	1 dosage après la mort.

La mesure de l'humeur vitrée a été effectuée sur deux chats.

La pression osmotique trouvée est égale dans tous les cas à celle fournie par une solution de chlorure de sodium titrant de 9 à 9,5 pour mille, et par conséquent identique sensiblement à celle du sang.

2° Modifications de l'humeur aqueuse après traumatisme du globe.

Selon Magitot, tout ce qui engendre une vaso-dilatation modifie la perméabilité des parois capillaires et les conditions osmotiques des échanges. Des substances qui normalement n'existent qu'à l'état de traces dans l'humeur aqueuse, mais se trouvent en abondance dans le sang, passent dans la chambre antérieure. Il s'ensuit que le liquide endoculaire s'éloigne de la composition de l'humeur aqueuse normale et qu'il est devenu une sorte d'exsudat sérique; en particulier, il y a augmentation des albumines, ce qui entraîne une augmentation du poids spécifique, de la viscosité, de l'indice de réfraction, de la tension superficielle. En outre, on admet qu'il y a diminution des chlorures.

Nous avons recherché si le massage et la compression prolongée du globe entraînaient des modifications dans la pression osmotique de l'humeur aqueuse : sur un chien anesthésié au chloral nous avons effectué un prélèvement d'humeur aqueuse sur un œil, puis avons luxé énergiquement en dedans l'autre œil pendant un

temps assez long. La pression osmotique de l'humeur aqueuse de l'œil traumatisé s'est révélée identique à celle de l'œil témoin.

Nous pouvons d'ailleurs penser que s'il y a modification dans la tonicité, elle doit être de faible amplitude car la diminution des chlorures (probablement très discrète puisqu'elle est seulement « admise ») peut être en partie contrebalancée par l'augmentation du taux des substances protéidiques ?

3° Tonicité des humeurs endoculaires et ophtalmotonus.

Par tension oculaire ou ophtalmotonus on désigne la pression interne, supérieure à la pression atmosphérique, qui permet à l'œil de conserver sa forme et de posséder une certaine dureté.

La tension oculaire est variable selon les animaux et on peut noter un certain rapport entre la tension oculaire et la pression artérielle générale qui, elle aussi, varie selon l'espèce. Wessely (33) montre que des variations provoquées de la tension artérielle entraînent des variations dans le même sens de l'ophtalmotonus, mais il prouve que la proportionnalité n'est pas absolue et que la tension oculaire est surtout influencée par les variations de la circulation sanguine locale de l'œil.

La tension oculaire est aussi une résultante de la pression de l'humeur aqueuse. Pour beaucoup d'ophtalmologistes, l'ophtalmotonus est régi par la sécrétion du liquide oculaire : Leber (37) estime que l'humeur aqueuse est animée d'un courant rapide entretenu par une sécrétion et une élimination continues; un obstacle à cette élimination entraînerait une augmentation de l'ophtalmotonus.

Selon Fischer (37), le vitré étant un colloïde imbibé d'eau, son volume est susceptible de gonflement ou de rétraction selon les modifications de l'équilibre acido-basique.

Enfin, d'autres auteurs, invoquant les faits selon lesquels des yeux de cadavre énucléés ont leur consistance augmentée ou diminuée lorsqu'ils sont plongés dans des solutions hypo- ou hypertoniques, rendent les phénomènes d'osmose responsables des variations de l'ophtalmotonus ; l'introduction dans la circulation générale d'une solution hypotonique détermine une augmentation de la tension oculaire et inversement une solution hypertonique entraîne une diminution de l'ophtalmotonus.

Bien que leur effet soit variable selon l'espèce animale, il est admis que certaines substances médicamenteuses, telles que l'ésé-

rine ou l'atropine, diminuent ou augmentent la pression intra-oculaire. En outre, selon Wessely, l'ésérine provoquerait une hyperalbuminose à l'intérieur de l'œil ; certains auteurs affirment que l'atropine amènerait une diminution du taux d'albumine, alors que d'autres nient toute variation de ce taux.

Nous avons utilisé l'ésérine et l'atropine chez le chat, en instillations locales et simultanément en injections parentérales. Un myosis ou une mydriase nets ont été obtenus mais nous ne sommes pas en mesure d'indiquer les variations de la tension oculaire, exprimée en millimètres de mercure, le tonomètre de Bailliart utilisé ne nous permettant pas de déceler les variations de tension que nous espérions obtenir.

Sur un œil de chat soumis à l'action de l'ésérine et sur deux autres yeux traités à l'atropine nous n'avons noté aucune modification de la pression osmotique.

Notons que l'action des divers médicaments sur la tension oculaire est obscure et controversée : on a cru que leur rôle était surtout vaso-moteur ; Magitot croit que leur action s'exerce principalement sur la perméabilité des capillaires.

La semi-rigidité de l'œil persiste quelque temps après la mort jusqu'à ce que les tissus privés de l'apport sanguin meurent à leur tour, deviennent perméables, perdent leur eau ou laissent traverser l'humeur aqueuse. Le globe oculaire perd sa dureté et devient hypotone.

Nous avons désorbité l'œil d'un chat immédiatement après la mort, l'avons pesé ; puis la même opération a été effectuée sur l'autre œil, resté sur le cadavre entreposé 24 heures à la température ambiante de l'ordre de 20 degrés centigrades, dont l'équivalent osmotique en chlorure de sodium de l'humeur aqueuse a été trouvé égal à 10,5 grammes pour mille.

La perte de poids, due à l'évaporation, que nous avons observée (en supposant les deux yeux identiques chez le même animal), ne nous paraît pas assez forte pour expliquer à elle seule cette augmentation de la pression osmotique ; mais les différences de poids inévitables provenant du fait que les deux yeux énucléés ne pouvaient être rigoureusement débarrassés d'une façon identique des annexes qui les entourent, ne nous permettent pas de conclure à une modification dans les constituants de l'humeur aqueuse.

CHAPITRE III

TONICITÉ DES SÉCRÉTIONS LACRYMALES

I. — COMPOSITION CHIMIQUE DES LARMES HUMAINES

Le liquide lacrymal, de goût légèrement salé, d'aspect clair, a une réaction faiblement alcaline. Il contient un certain nombre d'impuretés, de débris épithéliaux, du mucus, des corps gras... provenant de la conjonctive et des glandes annexes.

La composition chimique des larmes humaines, variable selon les auteurs, peut être brièvement résumée dans le tableau suivant :

	<u>Eau</u>	<u>Cendres</u>	<u>ClNa</u>	<u>Albumi- nes</u>
Frerichs, 1846	99,1-98,7	0,9-1,3	0,4-0,6	0,1
Magaard, 1882	98,1	1,9		
Lerch, 1855			1,25	
Polonowski (23)			1,3	
Röth, 1922			0,95	
Brown in Ridley, 1930		1,05	0,65	0,39
Michaïl et Vancea, 1934			0,83	
Krogh, Lund, Pedersen-Bjergaard, 1945			0,73-0,81	
Jaumard, 1951			0,74	

Signalons en outre la présence de globuline, urée, sucre, sels de potasse, ammoniacque, phosphates en proportions telles, selon Ridley (29), que le liquide lacrymal se rapprocherait par sa composition du plasma sanguin et de l'humeur aqueuse, la différence

essentielle résidant dans la présence de protéines et de la lysozyme — découverte par Fleming — qui seraient les seuls constituants spécifiques des larmes.

Remarquons que la plupart des mesures effectuées de 1832 à 1922 ont conclu à une teneur élevée en chlorure de sodium, pour les larmes comme pour les humeurs intra-oculaires et corrélativement, les pressions osmotiques fournies par les anciens auteurs traduisaient une hypertonie manifeste.

II. — HISTORIQUE DE LA DÉTERMINATION DE LA TONICITÉ DU LIQUIDE LACRYMAL HUMAIN

— Massart (20), en 1889, utilisa une méthode directe mais empirique. Constatant que parmi les solutions à titre variable en chlorure de sodium instillées sur l'œil de patients, c'étaient celles dont la concentration variait entre 13,6 et 14,6 grammes par litre qui étaient les mieux supportées, il en déduisit que les sécrétions lacrymales étaient isotoniques à une solution titrant 14 grammes pour mille de chlorure de sodium.

Or, il a été prouvé que l'œil humain était assez peu sensible aux solutions hypo- et hypertoniques. Cantonnet (4) avait observé que des patients ne remarquaient aucune différence entre des solutions chlorurées titrant de 8 à 15 pour mille ; Krogh, Lund et Pedersen-Bjergaard (14) fixent de 6 à 20, Jaumard (12) de 7 à 15 grammes pour mille les titres de chlorure de sodium qui sont supportés par l'œil sans qu'il en résulte une gêne. Néanmoins, l'assertion de Massart a franchi des décades, acceptée par tous les auteurs, comme c'est souvent le sort des « erreurs éprouvées ».

— Hamburger (9), en 1906, utilise le test des variations de volume des hématies dans les solutions ambiantes. Il place dans un tube en forme d'entonnoir — dont la partie rétrécie, obturée en bas, est très fine et calibrée — un demi-centimètre cube de liquide lacrymal et un volume donné de sang défibriné ; dans d'autres tubes identiques il introduit les mêmes volumes de sang et des solutions chlorurées à titres variables.

Au bout d'une demi-heure, ces tubes sont soumis à la centrifugation, ce qui a pour but de rassembler les globules rouges dans

la partie calibrée. La pression osmotique du liquide lacrymal correspond à celle de la solution saline qui communique au dépôt globulaire le même volume, c'est-à-dire celle titrant 14 grammes pour mille.

Hamburger fournit donc, par une méthode indirecte, les mêmes valeurs que Massart.

— Cantonnet (4) et Lapersonne, en 1908, étudient les modifications de cellules épithéliales cornéennes appartenant à des lapins, sous l'action de solutions chlorurées diversement concentrées. Ils constatent que des coupes histologiques ayant séjourné dans des solutions chlorurées dont le titre est compris entre 13,5 et 14,7 grammes o/oo sont excellentes et affirment leur méthode fort sensible et les résultats indiscutables.

Si ces travaux ont l'avantage d'utiliser des cellules qui ne sont pas étrangères au liquide lacrymal comme l'étaient les hématies, le procédé a, par contre, le défaut d'utiliser des tissus morts; de plus, la méthode ne détermine qu'indirectement la pression osmotique des larmes.

A la suite de ces travaux concordants les pharmacopées françaises et étrangères admettent que le liquide lacrymal est isotonique à une solution titrant 14 grammes pour mille de chlorure de sodium.

Cependant, à l'époque où était ainsi déterminée la pression osmotique des larmes, les recherches sur la tonicité des humeurs intra-oculaires, effectuées par les mêmes auteurs, si elles ne prouvaient pas exactement que les humeurs étaient isotoniques au sang, donnaient des chiffres qui s'en rapprochaient, et il semble surprenant que l'on ait pu admettre qu'une telle différence de tonicité puisse régner de part et d'autre de la cornée. En effet, si les larmes avaient une pression osmotique supérieure de 4 à 5 pour mille en chlorure de sodium à celle des liquides endoculaires, on pourrait penser que l'œil se déshydraterait et n'aurait pas la tension manométrique qu'il possède normalement.

Koster (13), en 1901, s'était efforcé de démontrer que les membranes les plus diverses de l'œil — en particulier la cornée — ne laissent pas passer le liquide par infiltration, c'est-à-dire sous une différence de pression aux deux surfaces des membranes, aussi longtemps qu'elles sont intactes : « le liquide ne passe absolument » pas, même sous une pression relativement forte, pendant les dix

« premières minutes de l'expérience ; passé ce temps, la filtration commence alors mais on peut supposer que les tissus sont altérés... Il en résulte, conformément à la manière de voir de Leber, que, dans l'œil vivant, les liquides et les substances les plus diverses ne sauraient traverser les diverses membranes intactes que par osmose, exception faite naturellement pour les voies d'élimination de l'humeur aqueuse ».

— Ridley (29), en 1930, faisant des expériences sur des lapins anesthésiés, prouve que la cornée est perméable dans les deux sens à l'eau et aux substances en solution ; il examine alors la composition des liquides baignant la cornée pour voir si la pression osmotique est capable de favoriser un passage de liquide à travers cette membrane perméable. Ridley admet avec d'autres auteurs que l'humeur aqueuse contient les constituants diffusibles du plasma sanguin à des concentrations semblables et que les pressions osmotiques de ces deux liquides sont identiques ; les analyses centésimales récentes montrent que les larmes se rapprochent, elles aussi, du plasma par leur composition.

Selon Ridley, sécrétions lacrymales et humeurs oculaires sont formées par un semblable procédé de dialyse à partir du sang, les protéines spécifiques et le lysozyme étant ajoutés par la suite. Les larmes doivent donc être isotoniques aux humeurs intra-oculaires et au sang ; la preuve en est apportée par la mesure directe de leur tonicité.

Ridley recueille les larmes sur des sujets humains sains et les collecte dans des capsules de Wright qui sont ensuite scellées. Puis ces échantillons sont mis en commun de façon à posséder une quantité de 6 centimètres cubes, suffisante pour déterminer leur point de congélation qui est fixé à — 0°55.

C'est donc à Ridley que revient l'honneur d'avoir prouvé par le raisonnement, par la détermination des compositions centésimales et la cryoscopie l'isotonicité au sang des larmes. Mais il semble que ses travaux n'aient pas été pris en considération et on continua d'admettre que les larmes avaient un coefficient isotonique de 14 o/oo.

On peut, certes, objecter que la mesure cryoscopique pourrait ne pas fournir des résultats absolus lorsque la quantité de liquide nécessaire a été obtenue par mélange d'échantillons multiples, ce qui implique des manœuvres de transvasement délicates.

— En 1945, les Danois Krogh, Lund et Pedersen-Bjergaard (14), utilisant la méthode très précise de mesure des tensions de vapeur, fixent à 9 pour mille la concentration osmotique en chlorure de sodium des larmes et à 8,6 pour mille celle du sang. Ces chiffres sont alors adoptés par les Pharmacopées danoise, britannique et helvétique.

— En 1951, Jaumard (12), après avoir mis au point son appareil de mesure, analyse les larmes de douze individus normaux et établit à 9,3 pour mille la concentration de la solution chlorurée isotonique aux larmes. Il considère que la concentration de 14 gr. pour mille, admise jusque-là en France, est erronée.

Ces mesures ayant été effectuées sur l'Homme seul, nous avons essayé de contrôler si les larmes des Mammifères domestiques avaient la même tonicité.

III. — LA TONICITÉ DES LARMES CHEZ LES ANIMAUX RECHERCHES PERSONNELLES

a) Mesures sur les animaux sains.

Nous avons effectué sur des animaux différents de la même espèce : 3 dosages chez le Cheval, 5 chez la Vache, 3 chez le Mouton, 1 chez le Veau, le Porc, le Chien, le Chat, le Dromadaire, le Zébu et le Singe.

Les résultats obtenus, dans les limites de précision indiquées, montrent une pression osmotique constante pour les espèces envisagées, ne variant pas d'un jour à l'autre, comme nous l'avons remarqué ultérieurement chez la Vache, très proche de la pression osmotique fournie par le plasma sanguin.

Les chiffres trouvés indiquent un coefficient osmotique, exprimé en chlorure de sodium, égal à 9-9,5 pour mille. Une mesure effectuée chez le Cheval nous a donné le chiffre discordant de 10 pour mille mais nous estimons que c'est une erreur car une deuxième mesure effectuée sur le même œil nous a donné une valeur égale à celle trouvée dans les autres cas.

b) Mesures sur œil pathologique.

Michaïl et Vancea (21) étudièrent chez l'Homme les variations de teneur en chlorure de sodium de larmes provenant des yeux malades. Prélevant les sécrétions lacrymales à l'aide de pipettes et les analysant par la méthode de Volhard, ils constatèrent une diminution du chlorure de sodium de 0,730 pour mille dans 8 cas à évolution aiguë et une augmentation de 0,654 pour mille dans 3 cas à évolution chronique. Ils concluent : « La teneur en chlorure de sodium ne dépend que du facteur lacrymal et les variations de son taux doivent être regardées comme un des faits les plus expressifs de la fonction lacrymale pathologique. »

Les hôpitaux de l'Ecole Vétérinaire nous ont fourni de nombreux cas cliniques mais les mesures ont été rendues délicates : tout d'abord sur un œil pathologique les sécrétions lacrymales sont très souvent souillées de pus ou de mucus qui rendent la lecture impossible lors de la fusion du liquide prélevé ; d'autre part, lorsqu'un chiffre anormal a été obtenu, une seconde mesure de contrôle n'a pu être effectuée car il avait été administré à l'animal un collyre ou une pommade ophtalmique dans les jours précédents.

Exemples :

— Chien berger allemand âgé de 8 mois, atteint de maladie de Carré avec forme nerveuse ; muqueuses oculaires congestionnées et larmolement bilatéral important. Coefficient osmotique : 9 pour mille.

— Chien caniche âgé de 5 ans. Entropion déterminant un larmolement chronique. Coefficient osmotique compris entre 9 et 9,5.

— Chien daubermann âgé de 3 ans. Entropion : 9-9,5.

— Chien griffon, 7 ans. Hyperthyroïdie, exophtalmie et kératite avec larmolement. Première mesure : 9-9,5; deuxième mesure : 9,5-10.

— Chat de race commune, sous poil noir, âgé de 3 ans. Atteint de tuberculose avec « bec de perroquet », conjonctivite plastique et larmolement : 9,5.

— Chat atteint de dacriocystite. Un examen bactérioscopique de muco-pus prélevé à l'angle interne de l'œil montre de longs

filaments du genre mycélien mais Gram négatifs et de nombreux éléments coccoïdes Gram négatifs : 9.

En conclusion, d'après les quelques cas étudiés, la tension osmotique des larmes semble rester à peu près constante dans les affections aiguës ou chroniques de l'œil s'accompagnant d'une hypersécrétion lacrymale. Toutefois, dans deux cas d'évolution plutôt chronique, cette pression s'est révélée légèrement supérieure à la normale mais d'une façon si peu nette qu'il n'est pas permis de conclure.

c) Modifications de la pression osmotique des larmes sous l'action d'une hypersécrétion expérimentale.

1. Avec le formol.

La Vache a été prise comme sujet d'expérience en raison de la facilité avec laquelle les prélèvements sont effectués sur cet animal et de l'abondance de liquide lacrymal qui peut être obtenu par irritation.

Nous avons utilisé, pour provoquer cette irritation, une solution officinale de formol à 40 %. Cette solution a été instillée, à faible dose et diluée, dans les naseaux de l'animal ; estimant que s'il devait y avoir modification de la pression osmotique, celle-ci serait d'autant plus nette que le flot provoqué de larmes serait plus abondant, nous avons aussi appliqué directement sur la cornée, en quantités infimes, la solution formolée. Lors de cette application directe sur l'œil, nous avons attendu un certain temps pour effectuer le prélèvement (la prise a été faite au moment où la sécrétion diminuait après être passée par un maximum), afin que l'écoulement lacrymal ait nettoyé la surface de l'œil et éliminé le formol. Ayant obtenu une légère diminution de la pression osmotique, nous ne pensons pas qu'il se soit introduit dans la mesure une erreur provenant de la présence de formol étant donné que celui-ci aurait, au contraire, provoqué une hausse sensible de ladite pression, compte tenu de son faible poids moléculaire.

Les dosages ont été effectués en comparant le prélèvement avec des tubes témoins et avec des larmes recueillies sur l'animal à l'état normal juste avant l'expérience.

Nous avons tout d'abord obtenu des résultats nuls ou douteux lors des trois premières mesures. En revanche, les trois mesures suivantes, effectuées avec plus de précision, nous permettent de conclure à une légère diminution de la pression osmotique au plus égale à 0,5 pour mille (pour donner une valeur numérique qui ne peut être que subjective avec le mode de mesure utilisé, le coefficient osmotique des larmes de Vache serait de 9,2 à l'état normal et de 8,8 environ lors d'hypersécrétion). Cette diminution pourrait résulter d'une modification du liquide excrété mais pourrait être due aussi à la suppression de la concentration par évaporation sur l'assez grande surface que représente l'œil et où règne une température d'environ 35 degrés.

2. Avec la pilocarpine.

Michaïl et Vancea (21) ont noté chez l'Homme que la pilocarpine avait augmenté la teneur en chlorure de sodium des larmes dans 5 cas alors qu'elle avait déterminé une diminution du taux dans 9 autres cas.

Nous avons injecté par voie hypodermique du nitrate de pilocarpine chez un chat. Une hypersécrétion lacrymale notable a été obtenue mais nous n'avons noté aucune modification de la pression osmotique.

CHAPITRE IV

QUELQUES FORMULES DE COLLYRES AQUEUX ISOTONIQUES AUX LARMES

Pour fabriquer un collyre il suffit à première vue de dissoudre le principe actif selon le titre donné. En médecine humaine, on s'est attaché depuis peu à ne rien négliger dans la fabrication des collyres (Jaumard [12]) ; outre les questions de pureté des produits, de stérilité, de conditionnement, les auteurs s'efforcent de rendre la solution isotonique aux larmes et de lui conférer une concentration ionique identique.

L'œil humain sain tolère des variations assez importantes de pression osmotique et de pH sans éprouver de gêne. Jaumard (12), utilisant des bains d'yeux ou des collyres, fixe cette marge de tolérance de 7 à 15 grammes pour mille de chlorure de sodium en ce qui concerne la tonicité, de 6,8 à 10,6 en ce qui concerne le pH. Lorsque ces deux facteurs à la fois sont défectueux, l'irritation ressentie par le sujet est beaucoup plus forte ; outre la douleur, encore plus vivement ressentie lorsque l'œil est malade, il en résulte une hypersécrétion de larmes qui dilue et évacue le produit thérapeutique.

Il est difficile de transposer ces notions subjectives en médecine vétérinaire ; on pourrait admettre que la sensation de gêne provoquée par un collyre défectueux est de faible importance par rapport à la douleur qui doit accompagner un ulcère de la cornée ou un accès de fluxion périodique.

D'autre part, il serait peu logique d'isotoniser et d'adapter la concentration ionique de certaines substances telles que le sublimé, qui sont très irritantes en elles-mêmes.

Par un louable souci de précision, le Codex et les formulaires vétérinaires (22), indiquent la composition de collyres isotoniques aux larmes, mais s'en tenant aux anciennes données, ils construisent leurs formules de façon à conférer au collyre une pression osmotique identique à celle d'une solution de chlorure de sodium à 14 grammes pour mille. Ceci n'est plus en accord avec les données actuelles et nous nous sommes attaché à donner quelques formules de collyres aqueux vraiment isotoniques aux larmes tout en essayant, lorsque c'est possible, de leur conférer un pH voisin de celui des larmes qui est très légèrement alcalin.

I. — ISOTONISATION DES COLLYRES

Elle consiste à ajouter à la substance active un corps thérapeutiquement neutre en quantité suffisante pour amener la pression osmotique du collyre à une valeur égale à celle du liquide lacrymal. Le chlorure de sodium est le plus couramment employé, mais il ne saurait l'être dans tous les cas comme nous le verrons lors d'étude de quelques cas particuliers.

La détermination de la quantité d'isotonisant à utiliser est diversement résolue suivant les auteurs.

— En envisageant le problème d'une façon très simple on peut considérer que certains corps thérapeutiques, tels les alcaloïdes, sont employés à une faible concentration et ont un poids moléculaire élevé. Il suffirait donc, dans ce cas, de dissoudre le principe actif dans du sérum physiologique.

— Siboni (30) évalue l'équivalence osmotique du principe actif en chlorure de sodium et cela par simple rapport des poids moléculaires : soit x g. cette équivalence ; il suffira d'ajouter $(9,2 - x)$ grammes de chlorure de sodium dans 1.000 cc. de collyre.

Cette méthode ne saurait donner que des résultats très approximatifs car elle ne tient aucun compte de la dissociation en ions des molécules dissoutes.

— Lumière et Chevrotier (17) proposent la formule suivante :

$$x = \frac{\Delta - a}{b}$$

x == poids en gramme d'isotonisant à ajouter à 100 cc.

Δ == abaissement cryoscopique du liquide lacrymal, soit 0°58.

a == abaissement cryoscopique de la solution à isotoniser.

b == abaissement cryoscopique d'une solution à 1 % du corps isotonisant.

Des tableaux ont été établis, donnant la valeur de « b », et permettant de calculer la valeur de « a » connaissant le titre de la solution à isotoniser (26).

— Sprowls (32) dresse un tableau donnant en centimètres cubes le volume v d'eau distillée nécessaire pour dissoudre 0,30 grammes de substance active et obtenir par mélange avec (30 — v) cc. de solution diluante isotonique aux larmes, 30 cc. d'un collyre à 1 % isotonique. Si le collyre doit avoir une autre concentration un simple calcul permet de déterminer le volume d'eau à utiliser. •

— Lund, Pedersen-Bjergaard et Becker-Rasmussen (18) déterminent la quantité de chlorure à ajouter à l'aide d'une méthode graphique.

Ces différentes méthodes nous sont d'une faible utilité car elles ne tiennent pas compte de la substance neutralisante à utiliser, celle-ci modifiant d'une façon très nette la pression osmotique.

II. — NEUTRALISATION DES COLLYRES

Elle se fait à l'aide de liquides légèrement alcalins ou acides suivant le cas, mais on doit tenir compte du fait que certaines substances actives ne sont chimiquement stables et ne possèdent un pouvoir thérapeutique satisfaisant que lorsqu'elles sont dans un liquide à pH déterminé.

Le solvant lui-même agit sur le pH ; l'eau distillée bouillie, très légèrement acide, est à utiliser. D'autre part, l'alcalinité du verre, le gaz carbonique atmosphérique peuvent modifier la concentra-

tion ionique du collyre et on a intérêt à introduire dans la solution une substance tampon.

Pratiquement, pour isotoniser un collyre, et, lorsque cela est possible, pour lui conférer un pH voisin de celui des larmes (7,7 selon Jaumard), nous procédons de la façon suivante :

La détermination du pH a été effectuée par la méthode électrométrique en se servant d'électrodes au calomel et antimoine reliées au potentiomètre de Voiret. En ce qui concerne le nitrate d'argent, nous avons utilisé la méthode colorimétrique.

La mesure de l'abaissement du point de congélation a été faite par le procédé classique de cryoscopie.

Nous déterminons tout d'abord le pH de la solution renfermant au titre voulu le principe actif seul. Par tâtonnements nous atteignons le pH choisi en ajoutant à la solution initiale la substance neutralisante à dose croissante. Puis l'abaissement cryoscopique de la solution à pH donné est déterminé expérimentalement ; la quantité d'isotonisant à lui ajouter est calculée approximativement. Une nouvelle détermination du point cryoscopique doit alors être effectuée et par tâtonnements nous déterminons la dose exacte d'isotonisant à ajouter.

III. — QUELQUES EXEMPLES DE COLLYRES AQUEUX

Jaumard (12) a étudié avec précision un certain nombre de collyres utilisables en médecine humaine et vétérinaire. Il compose les formules de façon à obtenir un pH égal à 7 et un abaissement cryoscopique égal à — 0°58 dont voici quelques exemples.

Collyre anesthésique au chlorhydrate de cocaïne (Jaumard).

Chlorhydrate de cocaïne.....	0,1 gr.
Sulfate de potassium.....	0,05 gr.
Citrate de sodium.....	0,035 gr.
Chlorure de sodium.....	0,041 gr.
Eau bi-distillée.....	10 cc.

Collyre anesthésique à la procaïne (Jaumard), pH 7,4.

Procaïne.....	0,10 gr.
Citrate de sodium.....	0,147 gr.
Chlorure de sodium.....	0,029 gr.
Eau bi-distillée.....	10 cc.

Collyre au sulfate neutre d'atropine (Jaumard).

Sulfate neutre d'atropine.....	0,1 gr.
Citrate de sodium.....	0,015 gr.
Chlorure de sodium.....	0,074 gr.
Eau bi-distillée.....	10 cc.

Collyre au nitrate de pilocarpine (Jaumard).

Nitrate de pilocarpine.....	0,1 gr.
Citrate de sodium.....	0,025 gr.
Chlorure de sodium.....	0,061 gr.
Eau bi-distillée.....	10 cc.

Collyre au sulfate de zinc (Jaumard).

Sulfate de zinc.....	0,02 gr.
Citrate de sodium.....	0,074 gr.
Chlorure de sodium.....	0,066 gr.
Eau bi-distillée.....	10 cc.

Certaines autres substances telles que l'alun, l'acide borique, le nitrate d'argent, le bleu de méthylène, l'ésérine sont employées en médecine vétérinaire. Nous indiquons les formules de collyres à base de ces principes actifs, que nous avons voulu aussi simples que possible tout en essayant de leur conférer les propriétés physiques requises.

Collyre à l'acide borique.

La solution d'acide borique à deux pour cent peut être considérée comme isotonique aux larmes ; son pH est de 5,3.

La solution suivante possède un pH égal à 7,5 et un abaissement du point de congélation de 0°59.

Acide borique.....	1,9 gramme
Borate de soude.....	0,1 gramme
Eau distillée.....	100 cc.

Collyre à l'alun.

La solution de sulfate d'aluminium et de potassium à 1 % possède un pH de 3 et elle est nettement hypotonique. Elle forme un louche lorsqu'on l'alcalinise avec du borate de soude. Le citrate de soude n'est pas incompatible et présente l'avantage de neutraliser et d'isotoniser à la fois la solution d'alun.

Alun.....	1 gramme
Citrate de soude.....	2,7 grammes
Eau distillée.....	100 cc.

$$\text{pH} = 7,3 - \Delta^{\dagger} = - 0^{\circ} 56$$

Collyre au nitrate d'argent.

Ce produit étant incompatible avec les matières organiques, les acides organiques et leurs sels, les acides minéraux (sauf l'acide nitrique), nous avons employé le nitrate de soude pour isotoniser.

La solution suivante est très légèrement acide et a un abaissement du point de congélation de 0°58 :

Nitrate d'argent	0,40 gramme
Nitrate de soude.....	1,2 gramme
Eau distillée	100 cc.

Collyre au bleu de méthylène.

La solution de chlorhydrate de tétraméthylthionine à 1 pour mille possède un pH égal à 3 ; elle est très hypotonique. On ne saurait l'isotoniser avec du chlorure de sodium, qui occasionne parfois la formation d'un précipité ; aussi utilisons-nous le dextrose.

Bleu de méthylène.....	0,1 gramme
Citrate de soude.....	0,6 gramme
Dextrose	4,1 grammes
Eau distillée	100 cc.
pH = 6,8 — Δ^+ = — 0° 55	

Collyre à l'ésérine.

On utilise le sulfate et surtout le salicylate, moins altérable. En milieu neutre ou alcalin, l'ésérine se transforme en rubrésérine qui est irritante et ne contracte plus la pupille ; il est donc nécessaire de l'utiliser dans des collyres à réaction acide. C'est ainsi qu'à une solution à 0,5 % de salicylate d'ésérine on ajoute 0,2 gr. d'acide benzoïque. La solution à 0,5 % de sulfate d'ésérine dont le pH est égal à 5,7 nous paraît être suffisamment acide ; si on lui ajoute 0,2 gramme d'acide benzoïque, on obtient un pH égal à 3,5.

Sulfate d'ésérine.....	5 cgr.
Chlorure de sodium.....	0,08 gr.
Eau	10 cc.
pH = 5,7 — Δ^+ = — 0°59	

CONCLUSIONS

I. — La pression osmotique des larmes, de l'humeur aqueuse et de l'humeur vitrée des Mammifères domestiques est la même que celle fournie par une solution de chlorure de sodium titrant de 9 à 9,5 grammes pour mille. On peut considérer en pratique que ces liquides sont isotoniques au sang.

II. — La pression osmotique des humeurs intra-oculaires ne nous paraît pas varier sous l'action de traumatismes du globe oculaire, qui cependant en modifient la composition, ni sous l'action de médicaments tels que l'ésérine et l'atropine, bien que ces alcaloïdes soient considérés comme capables de modifier l'ophtalmotonus.

III. — Les résultats que nous avons obtenus, quoique fragmentaires, laissent entendre que la tonicité des larmes reste pratiquement constante dans les affections aiguës et chroniques de l'œil ; elle diminue légèrement lors d'hypersécrétion notable obtenue par voie réflexe sous l'action irritante de l'aldéhyde formique.

IV. — Nous avons noté que la tonicité des sécrétions lacrymales et des humeurs endoculaires, peu variable in vivo, augmentait sensiblement au cours de la conservation à 38° sans qu'on puisse attribuer cette hypertonie à une concentration.

V. — Nous avons élaboré, pour quelques collyres aqueux, des formules propres à leur conférer une tonicité et une réaction ionique approchant celle des sécrétions lacrymales.

Vu :

Le Directeur
de l'Ecole Vétérinaire de Lyon,
L. JUNG.

Le Professeur
de l'Ecole Vétérinaire de Lyon,
A. BRION.

Vu :

Le Doyen,
H. HERMANN.

Le Président de la Thèse :
L. REVOL.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 10 Février 1954.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,
André ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

1. AULAGNER (A.). — Contribution à l'étude de l'isotonie des solutés injectables. « Thèse Doct. Univ. (Pharmacie) », Lyon, 1936.
2. BERZILIER. — In Précis de Chimie Biologique et Médicale, p. 966. Maloine, édit., Paris, 1944.
3. CANTONNET (A.). — Contribution à l'étude des échanges osmotiques entre les humeurs intra-oculaires et le plasma sanguin. « Thèse Méd. », Paris, 1906.
4. CANTONNET (A.). — Solutions chlorurées isotoniques aux larmes pour lavages et bains de l'œil. « Archives d'Ophtalmologie », Paris, 1908, **28**, 285.
5. DIETER. — « Ar. f. A. », 1925, **96**, d'après Magitot (19).
6. DUCLAUX (J.). — Les colloïdes. Gauthier-Villars & C^{ie}, Paris, 1929, p. 190 et suiv.
7. DUKE-ELDER (S.). — The intraocular fluid. Text book of Ophtalmology, Kimpton, London, 1942, **I**, p. 437.
8. GIRARD (P.). — Sur les relations des globules rouges avec leur milieu. « C. R. Ac. des Sciences », 1923, p. 156-160, d'après Aulagner (1).
9. HAMBURGER. — Méthode pour évaluer la pression osmotique de très petites quantités de liquides. « C. R. Soc. Biol. », 1906, pp. 77-79.
10. HENRIOUL. — Les collyres en pharmacie. « J. de Pharm. de Belgique », 1936, N^{os} 27 à 42.

11. HIND et GOYAN. — pH et propriétés osmotiques du liquide lacrymal. « J. Am. Pharm. Ass. » (Sc. Ed.), septembre 1949, **Vol. XXXVIII**, p. 477.
12. JAUMARD (A.). — Contribution à l'étude des collyres aqueux. pH et tonicité de la sécrétion lacrymale. « Thèse Doct. Univ. (Pharmacie) », Lyon, 1951.
13. KOSTER. — Nouvelles expériences sur la filtration à travers les tissus animaux. « Arch. Ophtalm. », 1901, **21**, 692.
14. KROGH (A.), LUND (C.-G.) et PEDERSEN-BJERGAARD (K.). — Concentration osmotique du liquide lacrymal humain. « Acta Physiol. Scand. », 1945, **10**, 88.
15. KUNST. — D'après Cantonnet (3), p. 34.
16. LERCH. — D'après TESTUT dans *Traité d'Anatomie Humaine*. Doin, édit., Paris, 1949, 9^e édit., **t. III**, p. 73.
17. LUMIÈRE et CHEVROTIER. — Sur l'isotonie en thérapeutique. « Bull. Sc. Pharm. », 1913, **XX**, 711.
18. LUND, PEDERSEN-BJERGAARD, BECKER-RASMUSEN. — Préparation des solutions isotoniques aux larmes. « Acta Pharm. Internat. », 1950, **Vol. I**, N° 1, p. 3.
19. MAGITOT (A.). — Dans *Traité d'Ophtalmologie* de Baillart, Coutela, Redslob, Velter. Masson & C^{ie}, 1939, **tome II**, pp. 18 à 189.
20. MASSART. — D'après Hind et Goyan (11).
21. MICHAIL et VANCEA. — Sur la teneur en chlorure de sodium du liquide lacrymal provenant des yeux normaux et malades. « C. R. Soc. Biol. », 1934, **115**, p. 894 et p. 1703.
22. NICOLAS (E.) et BRION (A.). — *Vade-mecum du Vétérinaire. Les collyres*. Vigot Frères, édit., 1949.
23. PHARMACOPÉE FRANÇAISE : 1908, 1937, 1949. Les collyres.
24. POLONOWSKI. — *Eléments de biochimie médicale*, p. 533. Masson & C^{ie}, édit., Paris, 1941.

25. RAOULT. — La cryoscopie. « Scientia serie Phys. Math. », **Vol. 13**, Paris, octobre 1901.
 26. REVOL (L.) et NOUVEL (S.). — A propos de la préparation des collyres aqueux. « Annales d'oculistique », 1952, **CLXXXV**, N° 9, pp. 753-763.
 27. ROCHON-DUVIGNEAUD et ONFRAY. — Expériences préparatoires à la recherche des variations de concentration des liquides intra-oculaires. « Soc. d'Ophtalm. de Paris », 6 juillet 1904. D'après Cantonnet (3).
 28. RÖMER (P.). — « Z. f. Aug. », 1927, **62**, p. 218, d'après Duke-Elder (7).
 29. RIDLEY (F.). — The intra-ocular pressure and drainage of the aqueous humor. « British Journal of Experimental Pathology », 1930, **XI**, p. 217.
 30. RIDLEY (F.). — The tears. Modern trends in Ophtalmology. Butterworth, London, 1940, p. 382.
 31. SIBONI. — Les collyres isotoniques. « Boll. Chim. Farm. », 1914-1915, d'après Jaumard (12).
 32. SPROWLS. — « J. A. P. A. », juin 1949, d'après Revol et Nouvel (26).
 33. WESSELY. — « Ar. f. Aug. », 1921, **89**, p. 113, d'après Magitot (19), p. 146.
 34. WINTER. — Propriétés dynamiques des humeurs; la cryoscopie. D'après Cantonnet (3).
 36. YUDKIN et GILMAN. — « Pr. S. Exp. Biol. Med. », 1927, **24**, p. 451, d'après Magitot (19).
 37. DEXER, HUNST, MANCA, LEBER, FISCHER. — D'après Magitot (19).
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	9
CHAPITRE PREMIER. — Procédés de mesure de la pression osmotique.	11
I. — La mesure directe à l'osmomètre	12
II. — La cryoscopie	13
III. — Les méthodes de modification cellulaire	13
IV. — La méthode thermo-électrique et mesure des tensions de vapeur	15
V. — Technique utilisant la fusion comparative (Jaumard)	15
a) Principe	15
b) Prélèvement des larmes	15
c) Technique de mesure	16
d) Recherches personnelles : incidence de divers facteurs	18
CHAPITRE II. — Tonicité des liquides intra-oculaires	21
I. — Leur composition chimique chez l'Homme et chez les Ani maux	21
II. — Pression osmotique des liquides endoculaires	22
a) Travaux antérieurs	22
b) Recherches personnelles	23
1° Pression osmotique de l'humeur aqueuse et de l'humeur vitrée prélevées sur des yeux sains	23
2° Modifications de l'humeur aqueuse après traumatisme du globe	24
3° Tonicité des humeurs oculaires et ophtalmo- tonus	25

CHAPITRE III. — Tonicité des sécrétions lacrymales.....	27
I. — Composition chimique des larmes humaines.....	27
II. — Historique de la détermination de la tonicité du liquide lacrymal humain.....	28
III. — La tonicité des larmes chez les Animaux. Recherches personnelles.....	31
a) Mesure sur les animaux sains.....	31
b) Mesure sur œil pathologique.....	32
c) Modifications de la pression osmotique des larmes sous l'action d'une hypersécrétion expérimentale.....	33
CHAPITRE IV. — Quelques formules de collyres aqueux isotoniques aux larmes.....	35
I. — Isotonisation des collyres.....	36
II. — Neutralisation des collyres.....	37
III. — Quelques exemples de collyres aqueux.....	38
CONCLUSIONS.....	41
BIBLIOGRAPHIE.....	43
